

Thesis

MUNICH

1964

ZUR HYGIENISCHEN BESCHAFFENHEIT
VON VORVERPACKTEM UND
ZUBEREITETEM HACKFLEISCH

LANE MEDICAL LIBRARY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF. 94304

ALBERT STEHLE

Aus dem Institut für Nahrungsmittelkunde der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. L. Kotter

und aus dem Staatlichen Tierärztlichen Untersuchungsamt Stuttgart
Vorstand: Ob.Reg.Vet. Rat Dr. O. Scheu

ZUR HYGIENISCHEN BESCHAFFENHEIT VON VORVERPACKTEM UND ZUBEREITETEM HACKFLEISCH

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

ALBERT STEHLE

Tierarzt
aus Stuttgart

München 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. L. Kotter
Referent: Prof. Dr. L. Kotter
Tag der Promotion: 28. 2. 1964

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	5
B. Literatur	6
1. Keimgehalt von Hackfleisch	6
2. Hackfleischhygiene durch Temperaturkontrolle	10
3. Grundsätzliches zur Verpackung von Fleisch, insbesondere zur Vakuumverpackung von Frischfleisch und Fleischwaren	11
4. Salz und Bakterienwachstum	15
C. Eigene Untersuchungen	17
1. Material	17
2. Methodik	17
3. Vorversuche	20
4. Hauptversuche	23
D. Diskussion	45
E. Zusammenfassung	49
F. Literaturverzeichnis	50



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A. EINLEITUNG

Durch die Verordnung über Hackfleisch, Schabefleisch und ähnliche Zubereitungen (Hackfleischverordnung) vom 24. 7. 1936 (RGBl. I S. 175) wurde die Behandlung von Hackfleisch an ganz bestimmte Bedingungen gebunden. Anlaß für diese Beschränkungen waren häufige Gesundheitsschädigungen nach dem Genuß von Hackfleisch, das unter mangelhaften hygienischen Verhältnissen hergestellt oder aufbewahrt worden war. Diese Momente sind auch heute noch beachtlich, wenngleich durch die Entwicklung der Kühltechnik Möglichkeiten geschaffen wurden, das Risiko erheblich zu vermindern. Eine besondere Situation ist nun aber durch den Verkauf vorverpackter Fleisch- und Wurstwaren entstanden. Im Zuge der Verkaufsrationalisierung und der Verbesserung der Verkaufshygiene sind besonders Supermärkte und Selbstbedienungsläden immer mehr dazu übergegangen, auch Frischfleisch in durchsichtigen Folien vorzuverpacken.

Es ergab sich das Bestreben, diese Verkaufsform auch bei Hackfleisch anzuwenden, wobei die nicht unbeachtlichen Argumente angeführt werden, daß dem leicht verderblichen Lebensmittel ein besserer Schutz gegen äußere Einflüsse verliehen wird. Dazu bietet sich insbesondere die Verwendung einer Vakuumfolie an, durch die außerdem der Sauerstoffzutritt verhindert wird und aerobe Keime weitgehend gehemmt werden. Da aber gerade die bedeutendsten eiweißzersetzenden oder toxinbildenden Keime anaerob wachsen und somit durch Ausschluß von Sauerstoff in ihrer Vermehrung gefördert werden, bedurfte es einer Klärung, inwieweit die Vakuumverpackung von Hackfleisch vom hygienischen Standpunkt vertretbar ist. In Ergänzung dazu sollte geprüft werden, ob bei der üblichen Verpackung durch den Zusatz von Kochsalz die Haltbarkeit gefördert werden kann.

B. LITERATUR

1. KEIMGEHALT VON HACKFLEISCH

Erfahrungsgemäß kann Hackfleisch hochgradig mit Keimen durchsetzt sein, ohne daß es dabei irgendwelche Geruchs- oder Farbabweichungen aufweist und somit auch für eine gesundheitsschädliche Beschaffenheit keine Warnzeichen vorliegen.

Keimzahlbestimmungen an Hackfleisch hat als einer der ersten Stroscher (36) durchgeführt. Er fand in Proben aus Fleischerläden durchschnittlich 18,5 Mio. Keime/g. Selbst in frischem Hackfleisch bester Qualität, das er selbst kaufte, ermittelte er durchschnittlich 6,3 Mio. Keime/g und in Hackfleisch, das er im sterilisierten Fleischwolf selbst herstellte, zwischen 175000 und 2,2 Mio. Keime/g.

Gundelach (10) schreibt schon 1902, daß Hackfleisch ein guter Nährboden für Bakterien sei und bei hoher Temperatur sowie genügend Feuchtigkeit geradezu zur "Bakterienbrutanstalt" werde.

In 16 von Berliner Fleischern bezogenen Proben von Hack- und Schabefleisch, die im übrigen 0,291 - 0,0291 % schwefelige Säure enthielten, wurden von Mayer (22) nach Aussaat auf Gelatineplatten 1,7 - 471,5 Mio. Keime/g festgestellt. Dazu der Autor: "Normales Fleisch enthält im Innern gar keine Bakterien, sie finden sich allenfalls als Verunreinigungen an der äußeren Seite. Das Hackfleisch aber ist ein durch und durch von Bakterienmassen durchsetztes Nahrungsmittel, ein Nährboden für Fäulniskeime von Haus aus, und diese Saat ist mehr oder weniger bereits in der zum Verkauf gebotenen Ware im üppigen Aufblühen."

Nach Jacobsen (13) betrug die Zahl der Bakterien in 48 Hackfleischproben, die in den Monaten März, April und Mai 1918 gekauft wurden, im Durchschnitt 486 Mio. Keime je "ccm". Der Autor war daher veranlaßt zu fordern, daß Hackfleisch nicht mehr als 50 - 100 Mio. Keime pro "ccm" enthalten dürfe. Nach seinen Beobachtungen kann bei einer grobsinnlichen Untersuchung eine beginnende bakterielle Verderbnis im allgemeinen erst wahrgenommen werden, wenn die Bakterienzahl annähernd 3 Mrd. je "ccm" beträgt.

Kallert (14) ermittelte in einem Gramm Frisch-Hackfleisch einen durchschnittlichen Keimgehalt von 1,8 Mio./g. Nach 24-stündiger bzw. 48-stündiger Lagerung der Proben bei Zimmertemperatur war die Keimzahl an der Oberfläche der Proben auf 100 Mio. bzw. 1,2 Mrd. und in der Tiefe auf 98,6 Mio. bzw. 422 Mio. angestiegen.

Nach Meyer (23) traten in den Jahren 1923 - 1936 20,2 - 42,2 % aller "Fleischvergiftungsepidemien" nach dem Verzehr von Hackfleisch auf. Etwa die Hälfte aller Erkrankungen und ein Drittel aller Todesfälle konnten auf den Genuß von Hackfleisch zurückgeführt werden. Daraufhin erst wurden Polizeiverordnungen erlassen, die den gewerbsmäßigen Verkehr mit Hackfleisch regelten. Da die Rechtsgültigkeit dieser Verordnungen angezweifelt wurde - es ging vorwiegend um eine höchstzulässige Verkaufsdauer von 2 - 3 Stunden, wie sie auf Wochenmärkten in Betracht kam -, wurde im Reichsgesundheitsamt in der Zeit von Juni - August 1928 durch Zeller und Beller (41) die Keimvermehrung von Hackfleisch innerhalb 4 Stunden unter verschiedenen Lagerbedingungen geprüft. Unmittelbar nach der Hackfleischherstellung im sterilisierten Wolf waren bei Ochsenfleisch durchschnittlich 317000 Keime im Gramm, bei Hackfleisch aus Gulaschfleisch zwischen 806 und 2100 Mio. Keime zu finden. Nach den Untersuchungen von Zeller und Beller waren auch die Keimzahlen an den Oberflächen der Proben nach einer gewissen Lagerung jeweils um ein Vielfaches höher als die Keimzahlen in der Tiefe.

Die beiden Autoren folgerten daraus: Je kleiner die zur Hackfleischbereitung dienenden Fleischstücke sind, umso größer ist die Verschmutzung ihrer Oberfläche durch Berührung mit den Händen usw.. Durch den im Fleischwolf erfolgenden Zerkleinerungsprozeß wird dann dieser Keimgehalt der Oberfläche der ganzen Fleischmasse ziemlich gleichmäßig mitgeteilt.

Vierstündiges Aufbewahren von Hackfleischproben bei Zimmertemperatur und im Kühlraum hatte auf die Keimvermehrung nur geringen Einfluß. Dagegen begünstigte die Lagerung im Freien die Keimvermehrung ebenso wie die Herstellung von Hackfleisch aus Gulaschfleisch. Temperatur und Licht beeinflussten die Farbe der Hackfleischproben besonders an der Oberfläche. Hackfleisch im Kühlraum behielt seine rote Farbe. Dagegen blaßten die bei Zimmertemperatur und im Freien aufbewahrten Proben umso rascher ab, je

intensiver die Beleuchtung war. Daher empfehlen diese Autoren dem Verbraucher, nicht bereits fertiges Hackfleisch zu kaufen, sondern schieres Fleisch zu verlangen und aus diesem das gewünschte Hackfleisch frisch herstellen zu lassen.

Kelch (15) bewahrte Hackfleischproben aus Frisch- und aus Gefrierfleisch in offener und geschlossener Glasschale sowie im Papier eingewickelt im Kühlschrank, bei Zimmertemperatur und im Brutschrank auf. Nach 24 und 48 Stunden erfolgte die Prüfung auf Farbe, Geruch, Konsistenz, Bildung von NH_3 und H_2S . Außerdem wurden p_{H} - und Keimzahlbestimmungen durchgeführt.

Es ergaben sich unwesentliche Farbunterschiede; Hackfleisch aus frischem Fleisch zeigte allgemein besseren Geruch. Im frisch hergestellten Hackfleisch befanden sich in 5 Versuchsreihen durchschnittlich 3,6 Mio. Keime/g bei p_{H} -Werten von 5,8.

Nach 24-stündiger Lagerung im Kühlschrank ermittelte Kelch 8 Mio. Keime/g bei unverändertem p_{H} -Wert und nach 48 Stunden 15,3 Mio. Keime/g bei ebenfalls gleichgebliebenem p_{H} -Wert. Weder nach 24 noch nach 48 Stunden konnte H_2S - und NH_3 -Entwicklung nachgewiesen werden.

Nach 24-stündiger Lagerung von aus frischem Fleisch hergestelltem Hackfleisch waren bei Zimmertemperatur in einem Gramm durchschnittlich 182,8 Mio. Keime bei p_{H} 6,2 zu ermitteln.

Hackfleisch aus Gefrierfleisch, das denselben Bedingungen unterworfen wurde, ergab eine geringere Haltbarkeit, was auch in vermehrtem NH_3 -Gehalt und durch die Erhöhung der Keimzahl sowie des p_{H} -Wertes zum Ausdruck kam.

In neuerer Zeit befaßten sich Knorr (16), Rogers und McCleskey (27) und Wieser (40) mit Keimzahlbestimmungen und Frische-Tests, die auch in der Praxis ohne größeren Zeit- und Materialaufwand durchführbar sein sollten.

Knorr suchte eine der möglichen Fehlerquellen bei bisherigen Untersuchungsmethoden zur Keimzahlbestimmung durch Homogenisieren der Proben in entsprechenden Geräten auszuschalten. Zweck dieses Verfahrens war, die stets vorhandenen Bakterienklümpchen zu zerkleinern. Er fand in 10 Hackfleischproben durchschnittlich 35,9 Mio. Keime/g.

Rogers und McCleskey lagerten Hackfleischproben bei 7° C. Sie prüften die Zusammenhänge zwischen Keimzahl, Ammoniakgehalt, p_H -Wert und Methylenblau-Reduktionszeit. Bei einem Anfangskeimgehalt von z. B. 48000 Keimen/g und einem p_H -Wert von 5,9 betrugen die Methylenblau-Reduktionszeit 7 Stunden und der Ammoniakgehalt 0,15 mg/g. Nach 5 Tagen wurde Verderbnisgeruch festgestellt. Die Keimzahl hatte sich auf 182 Mio./g, der p_H -Wert auf 7,0 und der Ammoniakgehalt auf 0,40 mg/g erhöht, die Methylenblau-Reduktionszeit auf 1/2 Stunde verringert. Nach 10-tägiger Lagerung betrug die Keimzahl 1,9 Mrd./g, der p_H -Wert 7,7, die Methylenblau-Reduktionszeit 1/2 Stunde und der Ammoniakgehalt 1,05 mg/g. Die Autoren halten den Methylenblautest zur Bestimmung des Frischewertes von Hackfleisch als zufriedenstellend. Bei der praktischen Anwendung reduzierten von 59 angekauften Hackfleischproben "42,4 %" Methylenblau innerhalb von 2 Stunden, "23,7 %" in einer Stunde und weniger; "10,2 %" reduzierten die Leukobase innerhalb von nur 30 Minuten.

Rogers und McCleskey schlagen zunächst als Kriterium für beginnende Verderbnis eine Methylenblau-Reduktionszeit von 2 Stunden oder darunter vor.

Wieser versetzte ein vorher auf Fleisch aufgedrücktes Papierfilter im Reagenzglas mit Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung und einigen Tropfen Methylenblau-Lösung. Er stellte fest, daß bei stark keimhaltigem und grobsinnlich schon verdorbenem Fleisch Methylenblau entfärbt wurde.

Während über Keimzahlen relativ viele Angaben gefunden werden konnten, liegen über die Zusammensetzung des Keimgehalts nur wenige Berichte vor.

Zweifel (42) hat in 248 Proben niemals pathogene Keime gefunden. Aus 19 Proben isolierte er zwar 23 paratyphus- und 6 typhusähnliche Stämme, die sich aber nach weiterer kultureller und serologischer Prüfung als unverdächtig erwiesen; wahrscheinlich handelte es sich um Proteus-Arten.

Knorr (16) berichtet über das Vorkommen von grampositiven Kokken, Sarcinen, Staphylokokken, Streptokokken, Clostridien und E. coli im Hackfleisch. Weiter weist er auf den hohen Gehalt von psychrotoleranten Keimen hin, der auf die beim Abhängen im Kühlhaus eintretende Keimbesiedelung zurückzuführen ist.

Gehringer (6) fand bei 100 gekauften Hackfleischproben in einem Fall färberisch "Tuberkelbakterien". Der Tierversuch auf Tbc verlief negativ, so daß der mikroskopische Befund nach heutigen Erfahrungen als unbeweisend angesehen werden muß.

Schönberg und Könekamp (30) konnten aus abgepacktem Hack- und Schabefleisch, das unter der Verpackungsfolie die ersten Anzeichen der Verderbnis zeigte, des öfteren *Pseudomonas fluorescens liquefaciens* mit stark proteolytischer Eigenschaft isolieren. Der aktivste Stamm zeigte bei einer Aufbewahrungstemperatur von 5 bis 6° C nach 24 Stunden und bei einer Temperatur von 2 bis 3° C erst nach 48 Stunden Anzeichen einer beginnenden Proteolyse. Das bedeutet für bevorratetes Hackfleisch, daß der bakterielle Eiweißabbau durch *Ps. fluoresc. liquef.* bei Temperaturen von 2 bis 6° C nach 24 bis 48 Stunden einsetzt. Die für Kühlvitriden geforderten Betriebstemperaturen von 8 - 10° C reichen also nicht aus, um psychrotolerante Keime erfolgreich zu hemmen.

An anderer Stelle weist Schönberg (31) noch einmal auf die große Rolle der in der Mehrzahl der Fälle vorkommenden psychrotoleranten Bakterien hin, zu denen viele *Pseudomonas*arten gehören. Diese zersetzen Fleischeiweiß bei Temperaturen von 10 bis 20° C ziemlich schnell. Weiterhin erwähnt er aerobe Sporenbildner wie *Bac. cereus*, *Bac. subtilis* und *Bac. coagulans*, die im Hackfleisch bei Temperaturen über 15° C starke Proteolyse hervorrufen. Er hält es für selbstverständlich, zur Hackfleischherstellung möglichst frisches, gut durchkühltes Fleisch zu verwenden.

2. HACKFLEISCHHYGIENE DURCH TEMPERATURKONTROLLE

Bisherige Angaben haben erwiesen, daß die Aufbewahrungstemperatur für die hygienische Beschaffenheit von Hackfleisch sehr wesentlich ist. Daher führte Lienhop (21) Temperaturmessungen im Hackfleisch bei einer Außen- und Ladentemperatur von 18 - 20° C durch. Es wurde im Hackfleisch zur Zeit der Herstellung eine Temperatur von 8° C gemessen, die nach 2 Stunden offener und ungekühlter Auslage im Laden auf 16 - 19,5° C anstieg. Erfolgte die Lagerung des Hackfleisches auf Klareis, so stieg die Temperatur auf 13,5 - 15° C an. Bei offener Lagerung im Kühlschrank bei einer Betriebstemperatur von 6 -

8° C wurden im Hackfleisch 10 - 11, 5° C festgestellt. In Klarsichtfolie verpackte und auf 2° C gekühlte Proben wiesen nach 2-stündiger Lagerung in der Kühltheke einen Anstieg auf 3° C auf. Daraus folgt, daß abgepacktes Hackfleisch nach der Verpackung umgehend in Kühltheken verbracht und daraus verkauft werden sollte. Je niedriger die auf das Hackfleisch einwirkenden Temperaturen sind, desto geringer ist die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien. Bei 4° C soll die Vermehrungstendenz von Mikroorganismen - abgesehen von psychrotoleranten Keimen bei kurzen Lagerzeiten - praktisch aufgehoben sein.

Sens (33) hat die Temperaturen im Verlauf der Hackfleisch- und Schabe-fleischherstellung geprüft. In rohem, zur Herstellung von Hackfleisch verwendeten Fleisch betrug die Temperatur 2, 3° C. Beim Durchlassen durch den Fleischwolf war ein Temperaturanstieg auf 6° C zu messen. Eine Stunde nach Verbringen des Fleisches in die Kühltheke wurden im Hackfleisch bei einer Betriebstemperatur von 2° C noch 9° C ermittelt. Diese Temperatur ist nach Sens für eine Lagerung zu hoch.

3. GRUNDSÄTZLICHES ZUR VERPACKUNG VON FLEISCH, INSBESONDERE ZUR VAKUUMVERPACKUNG VON FRISCHFLEISCH UND FLEISCHWAREN

Die Entwicklung auf dem Lebensmittelsektor mit der ständig anhaltenden Vergrößerung der Umsätze in den Supermärkten, Ketten- und ähnlichen Verkaufsorganisationen hatte zur Folge, daß das dort verkaufte Frischfleisch aus verkaufstechnischen Gründen in ausgewogenen Portionen in hygienischer Verpackung den Kunden angeboten wird. In den USA sollen 40 % des Frischfleisches bereits auf solche Weise verpackt zum Verkauf angeboten werden.

Leistner (20) berichtet über Ergebnisse von bakteriologischen Untersuchungen an etwa 3000 vorverpackten Fleischwaren. Darunter waren zahlreiche Vakuumpackungen verschiedener Art, jedoch kein Hackfleisch. Er führt aus, daß die meisten in vorverpacktem Fleisch ermittelten Keimarten fakultativ anaerob sind. Während der Lagerung der Packungen kommt es besonders an der Oberfläche der Fleischwaren zur Keimanreicherung, da hier Verunreinigungsmöglichkeit während des Verpackens gegeben ist und die Keime sich auf der Oberfläche besonders gut ausbreiten können. Bei Vakuumpackungen wurde das Wachstum von Schimmelpilzen und Hefen deutlich unter-

drückt. Die übrigen nachgewiesenen Keimarten hatten in den Vakuumpackungen fast ebenso gute Wachstumsmöglichkeit wie in nicht evakuierten Packungen, da es meist fakultativ anaerobe Keimarten waren. Streng anaerobe Keimarten wurden in den Vakuumpackungen nur selten gefunden. Offenbar reicht das erzielte Vakuum nicht aus, um das Wachstum der obligat anaeroben Keimarten zu ermöglichen, zumal die Folien nicht völlig gasundurchlässig sind. Weiterhin zeigte sich, daß Fleischwaren in Folien mit großer Wasserdampfdichte (Folien für Vakuumverpackung) infolge ihrer feuchten Oberfläche einen relativ schnellen Keimzahlenanstieg aufwiesen, da die Oberfläche der Fleischwaren in den Vakuumpackungen schlecht abtrocknen kann und nicht selten durch den Evakuierungssog Feuchtigkeit austritt. Leistner folgert, daß die Vakuumverpackung das Verkaufsausssehen der Fleischwaren zwar sehr verbessert, die Keimvermehrung auf dem Füllgut aber nur geringgradig hemmt.

Gißke (7) und v. Schelhorn (28) weisen darauf hin, daß Kenntnisse über die Stabilität von Lebensmitteln sowie die Entwicklung und Anwendung von geeigneten Kunststoffolien von entscheidender Bedeutung sind. Von wesentlichem Einfluß auf die Lagerfähigkeit eines verpackten Lebensmittels sind Anfangskeimgehalt, Verpackungshygiene sowie Aufbewahrung und Lagerung. Vorverpackte Lebensmittel, die keinem weiteren Konservierungsverfahren unterzogen wurden, entsprechen in ihrer Haltbarkeit etwa dem unverpackten Lebensmittel. Sie sind daher nur beschränkt lagerfähig und zum alsbaldigen Verzehr bestimmt. v. Schelhorn (28), Stegen und Müller (34) haben darauf hingewiesen, daß die Vakuumverpackung von Fleisch sogar bedenklich sein könne, da gerade die gefährlichsten, eiweißzersetzenden und toxinbildenden Bakterien anaerob leben und daher durch Ausschluß von Sauerstoff nicht nur nicht unterdrückt, sondern unter Umständen in ihrer Vermehrung gefördert werden können.

Nach Hepp (11) bestehen gegen die Zulassung der neuzeitlichen Verpackungsart für Hackfleisch in Kunststoff-Fertigpackungen erhebliche Bedenken. Die Verpackung selbst schützt nicht gegen den Verderb und dadurch entstünden zusätzlich hygienische Gefahren, selbst wenn die betreffenden Fleischwaren in offenen Kühltruhen aufbewahrt würden.

Einen Vorteil der Vorverpackung sieht v. Schelhorn (29) bei sachgemäßer Durchführung in der Erhöhung der Verkaufshygiene. Der Befall der Fleischwaren mit Fäulniskeimen und sogar pathogenen Keimarten während des Transports und Verkaufs wurde vermieden.

Kotter (17) sowie Prändl (25) sehen ein besonderes Problem des Verkaufs von vorverpacktem Fleisch im Selbstbedienungssystem darin, daß der Käufer ohne besondere Kontrolle nach Belieben die Packungen berührt, wobei die Umhüllungen leicht verletzt und so der Inhalt direkt infiziert werden kann. Kotter schlägt deshalb für uniforme Waren auch in Klarsichtfolien durchsichtige, automatische Vorrichtungen vor, aus denen jeweils nur eine Packung entnommen werden kann.

Besonderen Nachdruck legen Kotter (17) sowie Prändl (26) auf eine entsprechende Deklaration von vorverpacktem Frischfleisch, das ungefroren abgegeben wird. Sie schlagen den Aufdruck vor: Leicht verderblich, zum sofortigen Verbrauch bestimmt. Weiterhin sollte nach beider Meinung in Folien vorverpacktes Hackfleisch in tief gefrorenem Zustand portioniert zum Verkauf kommen. Die Haltbarkeit des Hackfleisches beträgt bei -18°C mehrere Monate. Um das Risiko der Vorverpackung zu kompensieren, sind nach Prändl strengste hygienische Anforderungen an das Ausgangsmaterial, an Räume, Geräte und Personal zu stellen.

Großklaus (9) beschäftigte sich mit dem Problem der Vorverpackung von küchenfertigem Frischfleisch. Er kam zur Feststellung, daß bei den in Klarsichtfolien verpackten Waren die Haltbarkeit vom Keimgehalt abhängig ist, der mit dem Lebensmittel in den Beutel gelangt. Als besondere Quellen führt er die Hände des Verpackungspersonals, die verwendeten Behältnisse und die Verpackungstische an.

Aus Veröffentlichungen von Großklaus (9) und Ball (2) lassen sich für die Verpackung von Frischfleisch in küchenfertige Portionen folgende Forderungen ableiten:

- a) Einwandfreie Beschaffenheit und ununterbrochene Kühlung der für die Zerlegung in Portionen vorgesehenen Tierhälften bzw. -viertel,
- b) Weiterzerlegung erst unmittelbar vor der Verpackung, nur in gekühlten Räumen und nur durch geschultes Personal,

- c) Temperatur des Verpackungsraumes nicht über 10°C , Luftfeuchtigkeit nicht mehr als 70 %,
- d) möglichst niedriger Luftkeimgehalt,
- e) ununterbrochene Kühlung der vorverpackten Fleischwaren bis zum Verbrauch und
- f) Hinweise auf den Folien, daß die Ware kühl zu lagern und von begrenzter Haltbarkeit ist.

Wieser (40) führte Haltbarkeitsuntersuchungen und Keimgehaltsbestimmungen an vorverpacktem Frischfleisch unter Verwendung verschiedener Verpackungsfolien und -methoden durch. Aus dem Vergleich der Verpackungsmethoden folgert Wieser, daß

- a) die größte Haltbarkeit mit der Vakuumverpackung erzielt werde, die Anwendung aber problematisch sei,
- b) vorverpacktes Fleisch nur bei Kühltemperatur aufbewahrt werden soll,
- c) eine Lagerung von 4 - 5 Tagen nicht überschritten werden soll,
- d) eine Vorverpackung nicht als Konservierung anzusehen und deshalb der Verbraucher aufmerksam zu machen sei, daß es sich um leicht verderbliche Ware handle und
- e) die Vorverpackung als eine hygienische Maßnahme bezeichnet werden könne.

Kraft und Ayres (18) zogen bei vorverpacktem Fleisch den Oberflächenkeimgehalt zur Beurteilung der Frische heran. Bei einem Keimgehalt von etwa 10 Mio. pro ccm trat Abweichung im Geruch auf; bei etwa 100 Mio. änderte sich die Konsistenz.

Ball (1) führte Keimzahlbestimmungen an vakuumverpackten Fleisch- und Hackfleischproben durch, die bei $32 - 44^{\circ}\text{F}$ gelagert wurden. Die Keimzahl bei Fleisch war nach einer Woche niedriger als bei Hackfleisch, das eine Keimzahl von $\log 5,6/\text{g}$ aufwies. Nach 3 bzw. 4 Wochen dagegen war die Keimzahl bei Fleisch weit höher als bei Hackfleisch, das nach dieser Zeit $\log 7,2$ Keime/g enthielt. In der 4. Lagerungswoche zeigten die vakuumverpackten Fleischstücke ein Absinken der Keimzahl, während bei vakuumverpacktem Hackfleisch ein weiterer Anstieg zu verzeichnen war.

Hess und Marthaler (12) befaßten sich erst vor kurzem mit Keimzählungen in abgepacktem Frischfleisch. Die entscheidende Phase der Keimvermehrung

ung erfolgt je nach Temperatur ab dem 2. -6. Tag. Bei Rindfleisch war während einer Lagerung bis zu 48 Stunden bei $0-2^{\circ}\text{C}$ nur geringer Keimzahlanstieg zu verzeichnen. Erst zwischen 48 und 72 Stunden erfolgte starkes Wachstum.

Sovadina (35) hat bei Routineuntersuchungen von vakuumverpackten Fleischproben einen im allgemeinen niedrigen Gehalt an Anaerobiern festgestellt.

Hinsichtlich der Farbveränderungen haben Ball (3) sowie Dean und Ball (5) berichtet, daß sich die rote Fleischoberfläche in den unter hohem Vakuum verpackten, sauerstoffundurchlässigen Behältnissen braun verfärbt, später aber wieder intensiv rot wird

George und Stratmann (8) berichten ebenfalls, daß die Oxydation von Myoglobin in Metmyoglobin bei sehr niedrigen Sauerstoffspannungen (4 mm Hg bei 0°C und 1 - 1,4 mm Hg bei 3°C) am stärksten ist.

4. SALZ UND BAKTERIENWACHSTUM

Das Salzen und Pökeln des Fleisches ist ein sehr altes Konservierungsverfahren, das schon in prähistorischer Zeit, später im alten China, Griechenland und in Rom angewendet worden ist.

Nach Untersuchungen von Tanner und Evans (37) zeigte das Salz eine selektive Wirkung auf das Wachstum der Bakterien. Anaerobe Keime wurden auf Nährböden mit einem Zusatz von 5 % Kochsalz in ihrem Wachstum gehemmt. Auf das Wachstum aerober Keime, fakultativer Anaerobier und Mikrokokken hatte Kochsalz in dieser Konzentration nur geringen Einfluß. Beide Autoren sind der Ansicht, daß Stäbchenbakterien von Kochsalz leichter in ihrem Wachstum gehemmt werden als Kugelbakterien. Bei kurzfristiger Konservierung von Nahrungsmitteln wirkt Salz in den gebräuchlichen Konzentrationen nicht bakterizid, sondern wachstumshemmend auf viele Bakterienarten.

Auch Petterson (24) berichtet, daß Anaerobier bei einem Kochsalzzusatz von 5 % in ihrem Wachstum gehemmt werden, während die Wirkung auf aerob wachsende Mikroorganismen, fakultative Anaerobier und Mikrokokken nur gering ist.

An anderer Stelle berichten Tanner und Evans (38) von Untersuchungen über das Wachstum von *Cl. botulinum* in verschiedenen Nährmedien, die wech-

selnde Kochsalzkonzentrationen enthalten. In Glukose-Agar muß 6,5 % und in Nährbouillon 7,8 % Kochsalz enthalten sein, um ein Wachstum zu verhindern.

Labrie und Gibbons (19) stellten eine Abhängigkeit der wachstumshemmenden Eigenschaft des Kochsalzes von der Temperatur fest. Die wachstumshemmende Eigenschaft ist bei 10° C wesentlich größer als bei 21° C.

Weichel (39) hat festgestellt, daß Fleischvergifter bei 10 %igem Kochsalzzusatz zu Nährböden, die bei Zimmertemperatur bebrütet wurden, in verhältnismäßig kurzer Zeit abgetötet wurden.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. MATERIAL

Das zu untersuchende Fleisch und Hackfleisch wurde in Stuttgarter Metzgereien gekauft. Es kamen 58 Hackfleischproben zur Untersuchung. 32 davon wurden aus 8 Tage abgehängenen Rindfleischhälften - das Fleisch wurde jeweils vom Bug entnommen - mittels eines im Autoklaven sterilisierten Fleischwolfes hergestellt. Die restlichen 26 Hackfleischproben wurden als "Hackfleisch" erworben. Zusätzlich wurden 15 Fleischproben gekauft und auf den Anaerobiergehalt der Oberfläche untersucht. Zur Vakuumverpackung der Proben wurde die Sterilfolie Budenheim-Rilsan verwendet. In Vorversuchen wurde festgestellt, daß sämtliche Folien keimfrei waren. Den Proben, bei denen die Wirkung des Salzzusatzes untersucht werden sollte, wurden 3 % NaCl beigegeben.

2. METHODIK

Bei Versuchsbeginn, nach 24 und 48 Stunden wurde der Gehalt an aeroben und anaeroben Keimen festgestellt. Dabei wurde aus dem Inneren einer Hackfleischprobe von etwa 125 g mit Hilfe eines Löffels 1 g Hackfleisch steril entnommen. Bei den vakuumverpackten Proben wurde vor der Entnahme des Untersuchungsmaterials die Folienoberfläche mit 70 %igem Alkohol "entkeimt". Anschließend wurde aus der Tiefe ebenfalls 1 g Hackfleisch steril entnommen und mit 49 ml physiol. Kochsalzlösung in den keimfreien Glasbecher eines Homogenisators gebracht. Nach dem Homogenisieren des Materials bei ca. 20000 Umdrehungen/Min. wurde das Homogenisat mit steriler physiol. Kochsalzlösung in einer Verdünnungsreihe um je eine weitere Zehnerpotenz bis 10^{-6} verdünnt. Bei länger gelagerten Proben wurde dem zu erwartenden hohen Keimgehalt entsprechend bis zu 10^{-8} verdünnt.

Je nach dem mutmaßlichen Keimgehalt wurden 3 - 4 Verdünnungen gewählt; aus jeder der Verdünnungen wurde jeweils 0,1 ml auf 2 Blutagarplatten ohne Zusatz und außerdem auf 2 mit einem Zusatz von 3 % Traubenzucker pipettiert und dann mit einem sterilen Glasspatel auf der Oberfläche gleichmäßig verteilt. Die Nährböden wurden mehrere Tage vorgetrock-

net, um damit Form -, Festigkeits - und Zustandsveränderungen zu steuern, die bei frischen Platten - wie Vorversuche ergeben haben - durch den Evakuierungsvorgang im Anaeroben-Apparat auftreten.

Die Blutagarplatten ohne Zusatz wurden 48 Stunden bei Zimmertemperatur, die Traubenzuckerblutplatten im Anaeroben-Apparat nach Zeißler 48 Stunden bei 37° C bebrütet. Beim Auszählen der Kolonien kamen nur diejenigen Platten zur Verwendung, die mehr als 20 und weniger als 300 Kolonien aufwiesen. Die ermittelten Keimzahlen sind Durchschnittswerte von jeweils 2 Nährbodenplatten der gleichen Art und beziehen sich auf 1 Gramm Hackfleisch.

Eine weitere Prüfung der Hackfleischproben auf anaerobe Keime erfolgte durch Beimpfen von Traubenzuckeragar in hoher Schicht mit Hackfleischmaterial. Die Bebrütung fand bei 37° C statt und die Auswertung erfolgte nach 24 und 48 Stunden.

Im Falle von Wachstum und Gasbildung in der Traubenzuckerhochschicht wurde, um fakultative Anaerobier auszuschließen, eine weitere Traubenzuckerblutplatte und Leber-Bouillon nach Tarrozzi beimpft. Die Bebrütung erfolgte 48 Stunden bei 37° C. Ein unterbleibendes Wachstum auf der Platte schloß Anaerobier aus. Die Leber-Bouillon wurde durch ein Gram-Präparat auf Wachstum untersucht. Die Prüfung der Pathogenität isolierter anaerober Keime erfolgte mit Meerschweinchen durch den Tierversuch. Den Tieren wurden 0,5 ml Leber-Bouillonkultur, nach Tarrozzi s. c. injiziert.

Parallel zu den bakteriologischen Untersuchungen erfolgte Prüfung auf Farbe, Geruch, p_H -Wert, Ammoniak und H_2S ; außerdem wurde die Methylenblau-Reduktionsprobe durchgeführt. Der p_H -Wert wurde mittels der Ingold-Stichelektrode Typ 405 und des Knick-Potentiometers gemessen.

Die Bestimmung des Ammoniakgehalts erfolgte semiquantitativ mit Neßler's Reagens nach der von Schönberg (32) eingeführten Methode. Dabei wurden ca. 2 Gramm der zu prüfenden Hackfleischprobe in die Vertiefung einer Porzellan-Tüpfelplatte gelegt und dann mit Neßler's Reagens übergossen. Bei frischem, völlig einwandfreiem Hackfleisch blieb Neßler's Reagens unverändert, klar und unverfärbt. Bei Vorhandensein kleiner Ammoniak-

mengen (beginnende Fleischfäulnis!) verfärbt sich das Reagens gelblich und bei stärkerer Ammoniakbildung ziehen aus dem Hackfleisch orangegelbe Wolken.

Beim Vorliegen von mittleren Fäulnisgraden verstärkt sich die Orangefärbung, so daß die ganze Lösung um die betreffende Hackfleischportion herum gelblich-rot gefärbt und getrübt erscheint.

Der H_2S -Nachweis wurde mit Bleiacetat geführt. Die Innenseite eines Petri-Schalen-Deckels wurde mit einem entsprechend großen Stück Filterpapier belegt, das mit 10 %iger wässriger Bleiacetatlösung angefeuchtet war. Der Bodenteil der Schale wurde mit Hackfleisch bedeckt und dann der Deckel so aufgesetzt, daß er mit dem Hackfleisch nicht in Berührung kam. Das Papier wurde dann eine halbe Stunde auf Schwärzung (Bleisulfitbildung) beobachtet.

Die Reduktaseprobe wurde in einer Kombination der von Rogers und Mc Cleskey (27) und der von Barthel und Orla-Jenssen (4) angegebenen Methoden durchgeführt. In einem Reagenzglas wurden zu 10 ml des Hackfleischhomogenisats (Verdünnung 1 : 10) 0,25 ml einer Mischung zugegeben, die aus 5 ml gesättigter, alkoholischer Methylenblau-Lösung und 195 ml destilliertem Wasser frisch hergestellt wurde. Das blaufärbte Homogenisat wurde dann im Wasserbad bei einer Temperatur von $38^{\circ}C$ so lange aufbewahrt, bis die Probe im oberen Drittel entfärbt war; die dazu erforderliche Zeit wurde festgehalten.

Zur Herstellung der Vakuumverpackungen wurde das Hackfleisch in Portionen zu 150 g steril in Rilsan-Flachbeutel gefüllt und in einem Union-Vakuumverpackungsautomat "Roboter-Standard" evakuiert und versiegelt. Die Höhe des Betriebsvakuums lag im Bereich von 98 - 99,8 %, die Siegeltemperatur betrug $125^{\circ}C$.

3. VORVERSUCHE

Haltbarkeitsuntersuchungen an pergamentverpackten Hackfleischproben

Versuchsreihe I

In dieser Reihe wurden zunächst Versuche unter Verhältnissen durchgeführt, wie sie bei der Herstellung von Hackfleisch unter optimalen hygienischen Verhältnissen gegeben sind. Um die Ausgangsbedingungen von vornherein so zu gestalten, daß der Keimgehalt möglichst niedrig war, wurde die Oberfläche des zu untersuchenden Fleisches steril entfernt, das Restfleisch im sterilen Fleischwolf zu Hackfleisch verarbeitet und dieses dann in sterilisiertes Pergamentpapier verpackt. Diese Versuchsanordnung sollte einen Vergleich mit den Gegebenheiten in vakuumverpacktem Hackfleisch ermöglichen, welches zum Teil in eigenen Versuchen hergestellt, zum anderen Teil aus dem Handel bezogen wurde.

Außerdem sollten die Ergebnisse dieser Versuchsreihe die Kontrolle zu den Ergebnissen der Versuchsreihe VI (Hackfleisch mit 3 % NaCl) bilden. Es kann nicht von ganz vollwertigen Kontrollen gesprochen werden, da zwar die Lagerung des Ausgangsfleisches und Herstellung des Hackfleisches in beiden Versuchsreihen unter gleichen Bedingungen erfolgten, aber das Fleisch nicht vom gleichen Tier stammte. Der technische Aufwand bei Keimzählungen usw. ließ jedoch keine andere Lösung zu. Die Ergebnisse aus der Versuchsreihe I sind unter Angabe der Lagerbedingungen, der Lagerzeiten sowie der angewandten Untersuchungsmethoden in Tabelle 1 - 4 zusammengefaßt.

Für die Tabellen 1 - 4 gilt folgende Zeichenerklärung:

- a = 0 Stunden Lagerzeit
- b = 24 Stunden Lagerzeit
- c = 48 Stunden Lagerzeit
- = kein Niederschlag bzw. kein Wachstum
bzw. praktisch ammoniakfrei
- + = gelblich, geringe Ammoniakbildung
- ++ = orange gelb, mittelgradige Ammoniakbildung
- +++ = gelb rot, starke Ammoniakbildung

Tab. 1: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf Geruch und Aussehen von selbsthergestelltem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Geruch			Farbe		
		a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	frisch	faulig	stark faulig	rot	braunrot	braun
	4	frisch	frisch	fade	rot	rot	braunrot
II	18 - 20	frisch	faulig	stark faulig	rot	braunrot	braun
	4	frisch	frisch	fade	rot	rot	braunrot
III	18 - 20	frisch	faulig	stark faulig	rot	braunrot	braun
	4	frisch	frisch	fade	rot	rot	braunrot
IV	18 - 20	frisch	faulig	stark faulig	rot	braunrot	braun
	4	frisch	frisch	fade	rot	rot	braunrot
V	18 - 20	frisch	faulig	stark faulig	rot	braunrot	braun
	4	frisch	frisch	fade	rot	rot	braunrot

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Tab. 2: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf Ammoniak- und Schwefelwasserstoffbildung sowie auf den p_H -Wert von selbsthergestelltem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	NH_3			H_2S			p_H -Wert		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	-	++	+++	-	-	-	5,7	6,5	7,0
	4	-	+	+	-	-	-	5,7	5,6	5,6
II	18 - 20	-	++	+++	-	-	-	5,7	6,5	7,1
	4	-	+	+	-	-	-	5,7	5,7	5,8
III	18 - 20	-	++	+++	-	-	-	5,8	6,2	7,0
	4	-	-	+	-	-	-	5,7	5,7	5,8
IV	18 - 20	-	++	+++	-	-	-	5,7	6,2	7,0
	4	-	-	+	-	-	-	5,7	5,6	5,6
V	18 - 20	-	++	+++	-	-	-	5,7	6,1	7,2
	4	-	++	++	-	-	-	5,7	5,7	5,8

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Tab. 3: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf aeroben Keimgehalt und Reduktasebildung in selbsthergestelltem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Keimzahl/g in 1000			Methylenblau- Entfärbungszeit (Std.)		
		a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	1200	300000	18000000	6	0,5	0,5
	4	890	650	39000	6	6	2
II	18 - 20	920	100000	25000000	6	0,5	0,5
	4	1200	20000	68000	6	2	0,5
III	18 - 20	660	386000	8000000	6	0,5	0,5
	4	160	1040	8500	6	6	4
IV	18 - 20	300	460000	15000000	6	0,5	0,5
	4	160	800	7000	6	6	4
V	18 - 20	560	620000	22000000	6	0,5	0,5
	4	320	1600	9500	6	6	4

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Tab. 4: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf anaeroben Keimgehalt in selbsthergestelltem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Keimzahl/g			Gasbildung in Traubenzucker- hochschicht nach	
		a	b	c	24 Std.	48 Std.
I	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
II	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
III	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
IV	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
V	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Besprechung der Ergebnisse aus Versuchsreihe I

Aus den Tabellen 1 - 4 ist ersichtlich, daß bei Zimmertemperatur aufbewahrtes Hackfleisch nach einem Tag deutliche Geruchs- und Farbabweichungen aufweist. Im Gegensatz dazu behält bei 4° C gelagertes Hackfleisch seinen frischen Geruch und seine rote Farbe. Hackfleisch, das 2 Tage bei Zimmertemperatur gelagert wird, war gleichfalls verdorben, während eine Lagerung bei 4° C nur geringe Farb- und Geruchsabweichungen zur Folge hatte.

Die Ammoniakbildung nahm während der Versuchsdauer bei den bei Zimmertemperatur gelagerten Proben stark zu, während an den bei 4° C gelagerten Proben auch nach 2 Tagen nur schwache Ammoniakbildung nachzuweisen war.

H₂S-Entwicklung konnte während der Versuchsdauer nicht nachgewiesen werden.

Bei einem Durchschnittskeimgehalt von 637000 pro Gramm zu Versuchsbeginn und einer Methylenblau-Reduktionszeit von 6 Stunden tritt während eintägiger Lagerung bei Zimmertemperatur eine erhebliche Zunahme des aeroben Keimgehalts auf. Die Durchschnittskeimzahl beträgt bei einer Reduktionszeit von einer halben Stunde etwa 4×10^8 Keime. Nach derselben Zeit enthält bei 4° C gelagertes Hackfleisch rund 5×10^6 Keime, die Reduktionszeit betrug dabei 6 Stunden. Die entsprechenden Keimzahlen nach einer 2-tägigen Aufbewahrungszeit bei Zimmertemperatur betragen 17×10^9 bzw. bei 4° C 15×10^7 und die dazugehörigen Reduktionszeiten 0,5 bzw. 2 Stunden.

Anaerobe Keime konnten weder in Traubenzucker in hoher Schicht im Reagenzglas noch auf Traubenzuckerblutagar-Platten festgestellt werden.

Der durchschnittliche p_H-Wert, der zu Versuchsbeginn 5,7 betrug, erreicht bei den bei Zimmertemperatur gelagerten Proben nach einem Tag einen Wert von 6,1, nach 2 Tagen 7,0, bei Proben, die bei 4° C gelagert werden, 5,6 und 5,7.

4. HAUPTVERSUCHE

Untersuchung der Oberfläche von gekauften Fleischstücken auf anaerobe Keime

Versuchsreihe II

Um eine Erklärung für den bei allen Untersuchungen der Versuchsreihe I negativen Anaerobiernachweis zu erhalten, sollte in dieser Versuchsreihe geprüft

werden, ob an der Fleischoberfläche, die in der Regel zu Hackfleisch mitverarbeitet wird, anaerobe Keime isoliert werden können. Die Primärkultur wurde in Traubenzuckerhochschicht, die Subkulturen auf Traubenzuckerblutagar (48 Stunden Zeißlertopf) und in Leber-Bouillon nach Tarrozzi gezüchtet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 und 6 zusammengefaßt.

Tab. 5: Untersuchung der Oberfläche von gekauften Fleischstücken auf anaerobe Keime

Probe Nr.	Gasbildung in 3 %igem Trauben- zuckeragar in hoher Schicht nach		Mikroskopischer Befund (Gram-Färbung)
	24 Std.	48 Std.	
I	+	++	lange grampositive Stäbchen
II	++	+++	
III	-	++	grampositive plumpe Stäbchen
IV	-	-	-
V	+++	+++	
VI	++	+++	lange grampositive Stäbchen
VII	++	+++	
VIII	+	+++	
IX	-	-	-
X	-	-	-
XI	-	++	lange grampositive Stäbchen
XII	+++	+++	grampositive lange Fäden
XIII	-	++	lange grampositive Stäbchen
XIV	+	++	
XV	+	++	grampositive Kokken

Zeichenerklärung:

- = keine Gasbildung
- + = geringe Gasbildung
- ++ = deutliche Gasbildung
- +++ = starke Gasbildung

Tab. 6: Eigenschaften der Subkulturen (siehe Tab. 5)
auf Traubenzuckerblutagar und im Tierversuch

Probe Nr.	Wachstum auf Trauben- zuckerblutagar	Pathogenität im Tierversuch
I	runde, weiße Kolonien mit β - Hämolyse	negativ
II		negativ
III	flache, cremefarbene Kolonien mit Ausläufern	negativ
IV	-	-
V		negativ
VI	runde, weiße Kolonien mit β - Hämolyse	negativ
VII		negativ
VIII		negativ
IX	-	-
X	-	-
XI	cremefarbene, runde Kolonien	negativ
XII	runde, weiße Kolonien	negativ
XIII	runde, weiße Kolonien mit β - Hämolyse	negativ
XIV		negativ
XV	runde, weiß- bis creme- farbene Kolonien	negativ

Besprechung der Ergebnisse aus Versuchsreihe II

Von 15 aus dem Einzelhandel bezogenen Fleischstücken zeigten 12 in der Traubenzuckerhochschicht Gasbildung. Sowohl aus der Hochschicht als auch von Subkulturen auf Traubenzuckerblutplatten (bebrütet im Zeißlertopf) konnten grampositive Stäbchen isoliert werden. Sie waren jedoch für Meerschweinchen nicht pathogen.

Untersuchung gekaufter Hackfleischproben auf anaerobe Keime

Versuchsreihe III

In dieser Reihe sollte geprüft werden, ob das aus Metzgereien oder Selbstbedienungsläden bezogene Hackfleisch anaerobe Keime enthält.

Ein Teil der Proben zu 100 g wurde in der Zeit von 11 - 13 Uhr in Stuttgarter Metzgereien gekauft, nachdem sie vor den Augen des Käufers hergestellt worden waren. Ein anderer Teil wurde in Selbstbedienungsläden erworben.

Die Proben gelangten noch am Kauftag ab 14 Uhr zur Untersuchung. Die Außentemperatur betrug an den fraglichen Tagen 10°C . Diese Temperatur war in den Proben nie überschritten.

Es wurde dieselbe Versuchsanordnung wie in Versuchsreihe II eingehalten. Ebenso gilt die dortige Zeichenerklärung

Tab. 7: Untersuchung gekaufter Hackfleischproben mittels Traubenzuckerhochschichtagar auf anaerobe Keime

Probe Nr.	Gasbildung in 3 %igem Trauben- zuckeragar in hoher Schicht nach		Mikroskopischer Befund (Gram-Färbung)
	24 Std.	48 Std.	
I	+++	+++	lange grampositive Stäbchen
II	+++	+++	
III	+++	+++	
IV	-	+	kurze plumpe gram- positive Stäbchen
V	++	+++	lange grampositive Stäbchen
VI	+	++	
VII	+	++	
VIII	+++	+++	grampositive Kokken
IX	+	++	
X	-	-	
XI	-	-	-
XII	+	++	kurze plumpe gram- positive Stäbchen
XIII	++	+++	lange grampositive Stäbchen
XIV	+	++	
XV	+	++	

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Tab. 8: Eigenschaften der Subkulturen (siehe Tab. 7)
auf Traubenzuckerblutagar und im Tierversuch

Probe Nr.	Wachstum auf Trauben- zuckerblutagar	Pathogenität im Tierversuch
I	weißgelbe, glänzende, runde, flache Kolonien mit β - Hämolyse und späterer Grünverfärbung	negativ
II		negativ
III		negativ
IV	gelb-weiße, runde Kolo- nien mit β - Hämolyse	negativ
V	weißgelbe, glänzende, runde, flache Kolonien mit β - Hämolyse und späterer Grünverfärbung	negativ
VI		negativ
VII		negativ
VIII		negativ
IX	weiß-gelbe Kolonien	-
X	-	-
XI	-	-
XII	gelb-weiße, runde Kolo- nien mit β - Hämolyse	negativ
XIII	weißgelbe, glänzende, runde, flache Kolonien mit β - Hämolyse und späterer Grünverfärbung	negativ
XIV		negativ
XV		negativ

Besprechung der Ergebnisse aus Versuchsreihe III

Von 15 gekauften Hackfleischproben zeigten 13 in Traubenzuckerhochschicht Gasbildung. Die Subkulturen auf Traubenzuckerblutagar, bebrütet im Zeißler-topf, erwiesen sich in 10 Fällen als anaerobe Keime, die aber nicht meerschweinchenpathogen waren.

Haltbarkeitsuntersuchungen an vakuumverpackten Hackfleischproben eigener
Herstellung

Versuchsreihe IV

In dieser Versuchsreihe sollte untersucht werden, wie sich Hackfleischproben, deren Ausgangsmaterial unter optimalen hygienischen Verhältnissen gewonnen und verarbeitet wurde, in Vakuumverpackung verhalten. Von jeder Hackfleischausgangssprobe wurden je 4 Portionen abgepackt. Die Durchführung der Versuche erfolgte in der in Versuchsreihe I angegebenen Weise; ebenso gilt die dortige Zeichenerklärung.

Tab. 9: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf Geruch und Aussehen von selbsthergestelltem, vakuumverpacktem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Geruch			Farbe		
		a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot	
	4	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot	
II	18 - 20	frisch	frisch	frisch?	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot	
	4	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot	
III	18 - 20	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot	
	4	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braun Inneres rot	
IV	18 - 20	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot	
	4	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot	
V	18 - 20	frisch	frisch	geringer Geruch	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot	
	4	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot	

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Tab. 10: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf die Ammoniak- und Schwefelwasserstoffbildung sowie auf den p_H -Wert von selbsthergestelltem, vakuumverpacktem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	NH ₃			H ₂ S			p _H -Wert		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,8	5,8	5,8
	4	-	-	-	-	-	-	5,8	5,8	5,7
II	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,8	5,8	5,7
	4	-	-	-	-	-	-	5,8	5,8	5,8
III	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,8	5,9	5,9
	4	-	-	-	-	-	-	5,8	5,8	5,7
IV	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,8	5,8	5,9
	4	-	-	-	-	-	-	5,8	5,7	5,8
V	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,7	5,7	5,8
	4	-	-	-	-	-	-	5,7	5,7	5,8

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Tab. 11: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf aeroben Keimgehalt und Methylenblau-Reduktionszeit bei selbsthergestelltem, vakuumverpacktem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Keimzahl/g in 1000			Methylenblau-Entfärbungszeit (Std.)		
		a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	320	1200	120000	6	6	0,5
	4	320	48	110	6	6	6
II	18 - 20	280	2200	260000	6	6	0,5
	4	280	40	60	6	6	6
III	18 - 20	120	370	130000	6	6	0,5
	4	120	41	83	6	6	6
IV	18 - 20	230	212	30000	6	6	0,5
	4	230	32	78	6	6	6
V	18 - 20	165	380	100000	6	6	0,5
	4	165	52	80	6	6	6

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Tab. 12: Anaerober Keimgehalt bei selbsthergestelltem, vakuumverpacktem Hackfleisch in Abhängigkeit von Lagerungszeit und -temperatur

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Keimzahl/g			Gasbildung in Traubenzuckerhochschicht nach	
		a	b	c	24 Std.	48 Std.
I	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
II	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
III	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
IV	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
V	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-

Zeichenerklärung: Siehe Seite 20

Besprechung der Ergebnisse aus Versuchsreihe IV

Das Evakuieren der Packung hatte Anliegen der Folie an den Inhalt und das Austreten von Fleischsaft aus der hohlraumfreien Fleischmasse zur Folge. Aus den Tabellen geht hervor:

Nach dem Öffnen der Vakuumpackung wies das 24 und 48 Stunden bei 4° C und Zimmertemperatur gelagerte Hackfleisch frischen Geruch auf. Die Farbschlag während der Lagerzeit von rot zu Versuchsbeginn bei den bei Zimmertemperatur gelagerten Proben an der Oberfläche nach braun um. Das Innere der Proben wurde braunrot. Bei den bei 4° C gelagerten Proben wurde die Oberfläche braunrot, das Innere blieb rot. Nach dem Öffnen wurde die Oberfläche bald wieder rot.

Ammoniak- und H₂S-Bildung konnte während der gesamten Versuchsdauer nicht nachgewiesen werden.

Bei einem Durchschnittskeimgehalt von 221000/g zu Versuchsbeginn, also vor dem Verpacken und einer Reduktionszeit der Methylenblau-Lösung von 6 Stunden, erhöhte sich bei Zimmertemperatur und eintägiger Lagerung die Zahl der aerob wachsenden Keime auf rund 872000. Die Reduktionszeit betrug immer noch 6 Stunden. Nach derselben Zeit enthielt bei 4° C gelagertes Hackfleisch rund 42000 Keime, gegenüber dem Anfangskeimgehalt war also eine Keimverminderung eingetreten; die Reduktionszeit betrug ebenfalls 6 Stunden. Die entsprechenden Keimzahlen nach einer 2-tägigen Aufbewahrungszeit bei Zimmertemperatur betrugen etwa 13×10^7 bzw. bei 4° C etwa 82000, die zugehörigen Reduktionszeiten 1/2 bzw. 6 Stunden.

Anaerobe Keime konnten weder in der Hochschicht noch auf Traubenzuckerblutagarplatten festgestellt werden.

Der Durchschnitts-p_H-Wert - bei Versuchsbeginn 5,7 - betrug bei den in Zimmertemperatur gelagerten Proben nach 24 und nach 48 Stunden 5,8. Bei den bei 4° C gelagerten Proben ergab sich für denselben Zeitraum ein Wert von 5,75.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß keine der Proben als verdorben beurteilt werden konnte.

Haltbarkeitsuntersuchungen an gekauften und dann vakuumverpackten Hack-
fleischproben

Versuchsreihe V

Die Ergebnisse dieser Versuchsanordnung sollten einen Vergleich zwischen handelsüblich hergestelltem und unter optimalen hygienischen Verhältnissen hergestelltem Hackfleisch liefern, das in beiden Fällen im Laboratorium sofort nach der Bereitung vakuumverpackt wurde. Die Aufbewahrung erfolgte unter den gleichen Bedingungen wie in der Versuchsreihe IV. Die angewendeten Untersuchungsmethoden entsprechen alle den in den vorhergehenden Versuchsreihen angewandten. In den Tabellen 13 - 17 sind die Ergebnisse der Versuchsreihen zusammengestellt.

Es gilt folgende Zeichenerklärung:

- = praktisch keine Ammoniakbildung bzw. kein Wachstum
 - + = geringe Ammoniakbildung
bzw. geringe Gasbildung
 - ++ = mittelgradige Ammoniakbildung
bzw. deutliche Gasbildung
 - +++ = starke Ammoniakbildung
bzw. starke Gasbildung
-
- a = vor dem Evakuieren
 - b = nach 24-stündiger Lagerung
 - c = nach 48-stündiger Lagerung

Tab. 13: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf Geruch und Aussehen von gekauftem und anschließend vakuumverpacktem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Geruch			Farbe	
		a	b	c	a	b c
I	18 - 20	frisch	stickig	stark stickig	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	leicht stickig	stickig	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
II	18 - 20	frisch	leicht stickig	stickig	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	frisch	leicht stickig	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
III	18 - 20	frisch	stickig	stark stickig	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	frisch	leicht stickig	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
IV	18 - 20	frisch	stickig	stark stickig	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	leicht stickig	stickig	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
V	18 - 20	frisch	leicht stickig	stickig	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	frisch	leicht stickig	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
VI	18 - 20	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
VII	18 - 20	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	frisch	frisch	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
VIII	18 - 20	frisch	stickig	stark stickig	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	leicht stickig	stickig	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
IX	18 - 20	frisch	leicht stickig	stickig	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	frisch	leicht stickig	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot
X	18 - 20	frisch	stickig	stark stickig	rot	Oberfläche braun Inneres braunrot
	4	frisch	leicht stickig	stickig	rot	Oberfläche braunrot Inneres rot

Zeichenerklärung: Siehe Seite 33

Tab. 14: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf Ammoniak- und Schwefelwasserstoffbildung sowie auf den p_H -Wert von gekauftem und anschließend vakuumverpacktem Hackfleisch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	NH ₃			H ₂ S			p _H -Wert		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	-	+	++	-	-	-	5,8	5,8	6,0
	4	-	+	+	-	-	-	5,8	5,8	5,9
II	18 - 20	-	+	++	-	-	-	5,8	5,8	6,1
	4	-	-	+	-	-	-	5,8	5,8	5,9
III	18 - 20	-	+	++	-	-	-	5,8	5,8	6,0
	4	-	+	+	-	-	-	5,8	5,8	5,9
IV	18 - 20	-	+	++	-	-	-	5,8	5,9	6,2
	4	-	-	+	-	-	-	5,8	5,8	5,9
V	18 - 20	-	+	++	-	-	-	5,7	5,8	5,9
	4	-	-	+	-	-	-	5,7	5,7	5,8
VI	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,8	5,8	5,8
	4	-	-	-	-	-	-	5,8	5,8	5,8
VII	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,7	5,7	5,8
	4	-	-	-	-	-	-	5,7	5,7	5,7
VIII	18 - 20	-	+	++	-	-	-	5,8	5,8	6,0
	4	-	+	+	-	-	-	5,8	5,8	5,9
IX	18 - 20	-	+	++	-	-	-	5,8	5,9	6,2
	4	-	-	+	-	-	-	5,8	5,8	5,9
X	18 - 20	-	+	++	-	-	-	5,8	5,8	6,0
	4	-	-	+	-	-	-	5,8	5,8	5,9

Zeichenerklärung: Siehe Seite 33

Tab. 15: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf den Aerobierkeimgehalt und die Reduktasebildung in gekauftem und anschließend vakuumverpacktem Hackfleisch
Bei der parallel dazu vorgenommenen Untersuchung auf anaerobe Keime mittels Plattenverfahren konnten im Gegensatz zur Traubenzuckeragar-Hochschichtmethode keine Keime ermittelt werden.

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Keimzahl/g in 1000			Methylenblau-Entfärbungszeit (Std.)		
		a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	1400	920000	34000000	6	0,5	0,5
	4	1400	9600	82000	6	4	0,5
II	18 - 20	4000	1200000	7200000	6	0,5	0,5
	4	4000	18000	120000	6	4	0,5
III	18 - 20	2400	1500000	4200000	6	0,5	0,5
	4	2400	13000	78000	6	4	0,5
IV	18 - 20	1900	1300000	3900000	6	0,5	0,5
	4	1900	12000	1100000	6	4	0,5
V	18 - 20	2700	2100000	5800000	6	0,5	0,5
	4	2700	14000	9300	6	4	0,5
VI	18 - 20	1300	800000	2800000	6	0,5	0,5
	4	1300	7600	64000	6	4	0,5
VII	18 - 20	900	700000	1900000	6	0,5	0,5
	4	900	6300	65000	6	4	0,5
VIII	18 - 20	2300	1600000	3900000	6	0,5	0,5
	4	2300	15000	125000	6	4	0,5
IX	18 - 20	1600	1900000	4500000	6	0,5	0,5
	4	1600	9000	85000	6	4	0,5
X	18 - 20	1200	1100000	4000000	6	0,5	0,5
	4	1200	7000	80000	6	4	0,5

Zeichenerklärung: Siehe Seite 33

Tab. 16: Untersuchung gekaufter und dann vakuumverpackter Hackfleischproben auf anaerobe Keime mittels Traubenzuckerhochschichtagar

Probe Nr.	Lager- temp. in °C	Gasbildung in 3 %igem Trauben- zuckeragar in hoher Schicht 48 Std. bebrütet			Gasbildung in Leberbouillon nach Tarrozzi 48 Std. bebrütet			Mikroskopischer Befund (Gramfärbung)
		a	b	c	a	b	c	
I	18 - 20	+++	+++	+++	+++	+++	+++	unbewegliche gram- positive Stäbchen mit subterminaler Sporenbildung
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
II	18 - 20	++	+++	+++	-	-	-	grampositive Kokken
	4	-	+	+	-	-	-	
III	18 - 20	+	++	+++	++	+++	+++	unbewegliche gram- positive Stäbchen mit subterminaler Sporenbildung
	4	+	++	+++	++	+++	+++	
IV	18 - 20	++	+++	+++	++	+++	+++	unbewegliche gram- positive Stäbchen mit subterminaler Sporenbildung
	4	+	++	+++	++	+++	+++	
V	18 - 20	-	+	++	-	+	+	grampositive Kokken
	4	-	-	+	-	-	-	
VI	18 - 20	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	
VII	18 - 20	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	
VIII	18 - 20	++	+++	+++	+++	+++	+++	unbewegliche gram- positive Stäbchen mit subterminaler Sporenbildung
	4	+	++	+++	++	+++	+++	
IX	18 - 20	-	+	++	-	-	-	grampositive Kokken
	4	-	-	+	-	-	-	
X	18 - 20	-	+	++	-	-	+	grampositive Kokken
	4	-	-	+	-	-	-	

Zeichenerklärung: Siehe Seite 33

Tab. 17 Eigenschaften der Subkulturen (Tab. 16) auf Trauben-
zuckerblutagar und im Tierversuch

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Wachstum auf Trauben- zuckerblutagar	Pathogenität im Meer- schweinchen-Tierversuch
I	18 - 20	lehmfarbene, knopfartige runde Kolonien mit ß - Hämolyse und späte- rer Grünverfärbung	positiv
	4		
II	18 - 20	weiß-gelbe Kolonien	negativ
	4		
III	18 - 20	lehmfarbene, knopfartige, runde Kolonien mit ß - Hämolyse und späte- rer Grünverfärbung	positiv
	4		
IV	18 - 20		positiv
	4		
V	18 - 20	weiß-gelbe Kolonien mit ß - Hämolyse	negativ
	4		
VI	18 - 20	-	-
	4		
VII	18 - 20	-	-
	4		
VIII	18 - 20	lehmfarbene, knopfartige, runde Kolonien mit ß - Hämolyse und späte- rer Grünverfärbung	positiv
	4		
IX	18 - 20	weiß-gelbe Kolonien mit ß - Hämolyse	negativ
	4		
X	18 - 20		negativ
	4		

Besprechung der Ergebnisse aus Versuchsreihe V

Nach dem Evakuieren treten die gleichen Erscheinungen auf wie in der Versuchsreihe IV: Austritt von Fleischsaft und braune Verfärbung (Metmyglobinbildung) des Muskelfarbstoffes.

Aus den Tabellen 13 - 17 ist folgendes ersichtlich: Nach dem Öffnen der Vakuumpackung nach 24 und 48 Stunden war bei einigen Proben stickiger Geruch zu notieren. Hinsichtlich der Farbe ergaben sich im Laufe der Lagerung die gleichen Feststellungen wie in Versuchsreihe IV.

Die Ammoniakbildung im Hackfleisch nahm während der Versuchsdauer sowohl bei 4° C als auch bei Zimmertemperatur in den Proben zu, die auch höhere Keimgehalte aufwiesen.

H₂S-Entwicklung wurde während der ganzen Versuchsdauer nicht nachgewiesen.

Bei einem Ausgangskeimgehalt von 2×10^6 pro Gramm und einer Reduktionszeit der Methylenblaulösung von 6 Stunden vor dem Verpacken erhöhte sich bei Zimmertemperatur und eintägiger Lagerung die Zahl aerob wachsender Keime auf 13×10^9 , die Reduktionszeit verkürzte sich auf 1/2 Stunde. Nach derselben Zeit enthielt bei 4° C gelagertes Hackfleisch 11×10^7 Keime bei einer Reduktionszeit von 4 Stunden. Die entsprechenden Keimzahlen nach einer zweitägigen Aufbewahrungszeit bei Zimmertemperatur betrugen 40×10^9 und bei 4° C $18,9 \times 10^7$. Die zugehörigen Reduktionszeiten betrugen jeweils 1/2 Stunde.

Anaerobe Keime konnten zwar bei der Keimzählung auf der Traubenzuckerblutplatte nicht festgestellt werden, doch aus Traubenzuckerhochschichtagar und Leberbouillon konnten mittels Subkultur auf Traubenzuckerblutplatten grampositive Stäbchen mit subterminaler Sporenbildung nachgewiesen werden. Sie waren für Meerschweinchen pathogen. An der Impfstelle entstand eine große mit Gas und Flüssigkeit gefüllte Blase. Nach Wuchsform, Tierversuch und mikroskopischem Befund handelte es sich um Cl. perfringens.

Der p_H-Wert, der im Durchschnitt bei Versuchsbeginn 5,8 betrug, blieb nach 24 Stunden unverändert. Nach 48 Stunden zeigte bei Zimmertemperatur gelagertes Hackfleisch einen Wert von 6,0 und bei 4° C gelagertes einen solchen

von 5,9.

Organoleptisch ungünstig beurteilte Proben wiesen im allgemeinen deutlich Ammoniakbildung, Keimgehalte $> 10^9$, positiven Anaerobiernachweis in Leber-Bouillon und Traubenzuckerhochschichtagar, Reduktionszeiten < 4 Stunden und p_H -Werte von $> 5,8$ auf.

Haltbarkeitsuntersuchungen an Hackfleisch mit 3 % Kochsalzzusatz

Versuchsreihe VI

Diese Reihe unterscheidet sich von der Versuchsreihe I durch einen Zusatz von 3 % Speisesalz (NaCl) zum Hackfleisch. Ausgangsmaterial, Lagerbedingungen und Lagerzeiten sowie angewandte Untersuchungsmethoden entsprechen denen der Versuchsreihe I.

Ergänzend dazu wurde zur Absicherung der Methodik und Feststellung der Salzempfindlichkeit der vorhandenen Keime ein "Kreuzversuch" vorgenommen. In ihm erfolgten Keimgehaltsbestimmungen von ungesalzenem und gesalzenem Hackfleisch auf Nährböden, die in einem Fall 3 % Speisesalz enthielten und im anderen Fall ohne Speisesalzzusatz hergestellt wurden.

Für die nachstehenden Tabellen (18 - 22), in denen die Ergebnisse zusammengestellt werden, gilt folgende Zeichenerklärung:

a	=	0 Stunden Lagerzeit
b	=	24 Stunden Lagerzeit
c	=	48 Stunden Lagerzeit
-	=	frischer Geruch bzw. kein Wachstum bzw. praktisch keine Ammoniak- bildung
+	=	geringgradiger Geruch nach "Stärke"
++	=	Geruch nach "Stärke"
+++	=	starker Geruch nach "Stärke"

Tab. 18: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf den Aerobierkeimgehalt und die Reduktasebildung in selbsthergestelltem Hackfleisch mit 3 % NaCl und in Pergamentpapierverpackung (grobsinnlicher Befund)

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Geruch			Farbe		
		a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	-	++	+++	rot	braun	braun-schmierig
	4	-	+	++	rot	braun-rot	braun
II	18 - 20	-	++	+++	rot	braun	braun-schmierig
	4	-	+	++	rot	braun-rot	braun
III	18 - 20	-	++	+++	rot	braun	braun-schmierig
	4	-	+	++	rot	braun-rot	braun
IV	18 - 20	-	++	+++	rot	braun	braun-schmierig
	4	-	+	++	rot	braun-rot	braun
V	18 - 20	-	++	+++	rot	braun	braunrot
	4	-	+	++	rot	braun-rot	braun

Zeichenerklärung: Siehe Seite 40

Tab. 19: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf die Ammoniak- und Schwefelwasserstoffbildung sowie auf den p_H -Wert von selbsthergestelltem Hackfleisch mit 3 % NaCl und in Pergamentpapierverpackung

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	NH ₃			H ₂ S			p_H -Wert		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,5	5,7	5,8
	4	-	-	-	-	-	-	5,5	5,6	5,7
II	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,5	5,7	5,9
	4	-	-	-	-	-	-	5,5	5,5	5,7
III	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,6	5,7	5,8
	4	-	-	-	-	-	-	5,5	5,6	5,7
IV	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,5	5,8	5,8
	4	-	-	-	-	-	-	5,6	5,6	5,7
V	18 - 20	-	-	-	-	-	-	5,5	5,7	5,9
	4	-	-	-	-	-	-	5,5	5,5	5,6

Tab. 20: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf den Aerobierkeimgehalt und die Reduktasebildung in selbsthergestelltem Hackfleisch mit 3 % NaCl und in Pergamentpapierverpackung

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Keimzahl/g in 1000			Methylenblau-Entfärbungszeit in Std.		
		a	b	c	a	b	c
I	18 - 20	20	64	56000	6	6	2
	4	16	60	24	6	6	6
II	18 - 20	27	80	120000	6	6	0,5
	4	35	42	26	6	6	6
III	18 - 20	26	2664	168000	6	6	0,5
	4	18	17	56	6	6	6
IV	18 - 20	22	840	152	6	6	0,5
	4	16	74	66	6	6	6
V	18 - 20	23	120	135	6	6	0,5
	4	19	69	63	6	6	6

Zeichenerklärung: Siehe Seite 40

Tab. 21: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf den Anaerobierkeimgehalt und die Gasbildung in selbsthergestelltem Hackfleisch mit 3 % NaCl und in Pergamentpapierverpackung

Probe Nr.	Lagertemp. in °C	Keimzahl/g			Gasbildung in Traubenzuckerhochschicht nach	
		a	b	c	24 Std.	48 Std.
I	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
II	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
III	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
IV	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-
V	18 - 20	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-

Tab. 22: "Kreuzversuch" zur Feststellung der Salzempfindlichkeit der Keime

Hackfleisch	Lager- temp. in °C	Keimgehalt/g in 1000 auf Nährböden mit	
		3 % NaCl	ohne NaCl
ohne NaCl	4	160	300
mit 3 % NaCl	4	30	42

Besprechung der Ergebnisse aus Versuchsreihe VI

Aus den Tabellen 18 - 22 ist folgendes ersichtlich:

Nach 24 Stunden wies das bei Zimmertemperatur gelagerte Hackfleisch einen eigenartigen dumpfen Geruch auf, der in der Tabelle als "Stärkegeruch" bezeichnet wird. Nach 48 Stunden war das Auftreten des dumpfen Geruchs bei allen gelagerten Proben zu beobachten; in den bei Zimmertemperatur gelagerten Proben war er intensiver geworden.

Die Lagerung bei 4° C verursachte innerhalb von 24 Stunden eine leichte Abdunklung, bei Zimmertemperatur starke Abdunklung der Fleischoberfläche. Nach Ablauf von 48 Stunden zeigte bei 4° C gelagertes Hackfleisch Braunfärbung. Gleich lange Lagerung bei Zimmertemperatur bewirkte neben der Braunfärbung eine auffallende schmierige Beschaffenheit.

Ammoniak- und H₂S-Bildung wurde während der gesamten Versuchsdauer nicht nachgewiesen.

Bei einem Durchschnittskeimgehalt von 22000 pro Gramm zu Versuchsbeginn und einer Methylenblau-Reduktionszeit von 6 Stunden erhöhte sich bei Zimmertemperatur und nach eintägiger Lagerung die Zahl aerob wachsender Keime auf rund 750000, bei einer Reduktionszeit von 6 Stunden. Nach derselben Zeit enthielt bei 4° C gelagertes Hackfleisch rund 52000 Keime und die Reduktionszeit betrug ebenfalls 6 Stunden. Die entsprechenden Keimzahlen betrugen nach einer zweitägigen Aufbewahrungszeit bei Zimmertemperatur rund 13×10^7 und bei 4° C 47000. Die zugehörigen Reduktionszeiten lagen bei einer knappen Stunde bzw. bei 6 Stunden.

Anaerobe Keime konnten weder in der "Hochschicht" noch auf Traubenzuckerblutplatten festgestellt werden.

Der durchschnittliche p_H -Wert, der zu Versuchsbeginn 5,5 betrug, erreichte in den bei Zimmertemperatur gelagerten Proben nach einem Tag einen Wert von 5,7, nach 2 Tagen 5,8 und bei Proben, die bei 4°C gelagert wurden, 5,6 bzw. 5,7.

Der Keimgehalt des nicht vorgesalzenen Materials war auf Nährböden ohne Speisesalzzusatz nahezu doppelt so groß wie auf Nährböden mit Speisesalzzusatz. Besonders auffällig ist der geringe Keimgehalt des Untersuchungsmaterials, dem Speisesalz zugesetzt worden war, sowohl auf Nährböden, die mit Speisesalz als auch auf solchen, die ohne Speisesalz hergestellt wurden; jedoch bewirkte der im Nährboden befindliche Speisesalzanteil eine weitere Verringerung der Keimzahl gegenüber den ohne Speisesalz hergestellten Nährböden.

D. DISKUSSION

In Selbstbedienungsläden, Fleischabteilungen der Kaufhäuser und größeren Lebensmittelläden ist es üblich geworden, neben vorverpacktem Fleisch und vorverpackten Fleischwaren auch Hackfleisch in Packungen anzubieten. Einmal handelt es sich dabei um Schalen, die mit Pergamentpapier kaschiert sind und nach Füllung mit Klarsichtfolien umgeben, versiegelt sowie mit einem Datum und Uhrzeit anzeigenden Zeitstempel versehen werden. Zum anderen wird Hackfleisch auch auf Papptellerchen gebracht und mit Folien überdeckt, die unter dem Karton verschweißt werden.

Die Vorverpackung bietet für die Rationalisierung des Fleischverkaufes große Vorteile. Darüber hinaus wird Fleisch, also auch Hackfleisch, gegenüber äußeren Einflüssen insbesondere beim Betasten der Ware durch den Käufer, aber auch vor Austrocknung und Verstaubung weitgehend geschützt. Ein Durchstoßen der relativ dünnen Folienumhüllung durch den Fingernagel oder z. B. durch den in der Hand gehaltenen Schlüsselbund ist allerdings möglich, was zu Verunreinigungen des Hackfleischs mit Verderbnis- oder Krankheitserregern führen kann. Um dem vorzubeugen, hatten Kotter (17) und Prändl (25) Automaten empfohlen.

Größere Widerstandskraft gegenüber mechanischen Einwirkungen besitzen dagegen Folien, wie sie für Vakuumverpackungen verwendet werden. Verletzungen dieses Materials können nur als Folge grobfahrlässiger Behandlung auftreten.

Nach § 2 (4) der Hackfleischverordnung muß Hackfleisch, Schabefleisch und zubereitetes Hackfleisch, das nicht unmittelbar nach der Herstellung oder Zubereitung an den Verbraucher abgegeben wird, in Kühleinrichtungen oder unter sicher abschließenden, luftdurchlässigen Fliegenschutzvorrichtungen kühl aufbewahrt werden. Nachdem vorverpacktes Hackfleisch generell nicht unmittelbar nach der Herstellung oder Zubereitung an den Verbraucher abgegeben wird, ist es aufgrund dieser Bestimmung erforderlich, die Packungen in Kühleinrichtungen zum Verkauf vorrätig zu halten. Sofern keine Kühleinrichtungen zur Verfügung stehen, scheidet der Verkauf von vorverpacktem Hackfleisch von vornherein aus, da für diese Fälle die Aufbewahrung unter sicher abschließenden, jedoch luftdurchlässigen Fliegengittern zu erfolgen hat. In diesem Fall

wäre demnach eine Folienverpackung fehl am Platze.

Im übrigen sei noch vermerkt, daß bei unserer derzeitigen wirtschaftlichen Lage für jedes Geschäft, welches zum Vertrieb von Hackfleisch befugt ist, eine entsprechende Kühleinrichtung Grundvoraussetzung ist, so daß auch das Zugeständnis, wonach Hackfleisch auch unter einem luftdurchlässigen Fliegengitter aufbewahrt werden kann, nicht mehr gerechtfertigt ist.

Die Versuchsanordnung dieser Arbeit bezog sich nun allerdings nicht nur auf die Lagerung in Kühlvorrichtungen (4°C), sondern auch auf den Einfluß der Lagerung bei Zimmertemperatur ($18 - 20^{\circ}\text{C}$), da ein eventuelles Aufbewahren der gekauften Packung beim Verbraucher ebenfalls in Erwägung zu ziehen ist. Letzteres ist allerdings nicht vorgesehen, und der Verbraucher sollte eigentlich durch einen entsprechenden Hinweis auf der Packung auch darauf aufmerksam gemacht werden.

Zunächst muß noch herausgestellt werden, daß die Herstellung von Hackfleisch unter Beachtung hygienischer Voraussetzungen erheblich bessere Haltbarkeit und günstigere Keimgehalte ergab, als dies beim Hackfleisch des Handels der Fall war.

Bei der Überprüfung der Frage, inwieweit die Vakuumverpackung hygienische Vorteile bietet, wurde festgestellt, daß bei Zimmertemperatur gelagertes, nicht vakuumverpacktes Hackfleisch nach 48 Stunden deutliche Verderbnisercheinungen zeigte, während das vakuumverpackte noch genußtauglich geblieben war. Bei 4°C gelagertes, nicht vakuumverpacktes Hackfleisch war nach der gleichen Zeit noch genießbar, vakuumverpacktes Hackfleisch blieb sogar frisch wie vor der Verpackung. Diese Bewertung erfolgte nach Geruch, Keimzahl und chemisch-physikalischen Kriterien. Keine Berücksichtigung fand dabei, daß durch das Evakuieren sich das Füllgut zusammenzieht und bald darauf auffallende Braunfärbung zeigt. Ebenso läßt der Austritt von Fleischsaft und das satte Anliegen der Folie den Inhalt unansehnlich erscheinen. Inwieweit der Braunverfärbung gesteuert werden könnte, wenn das Hackfleisch vor seiner Vakuumverpackung in einem Oxygenator mit Sauerstoff angereichert würde, müßte noch geprüft werden. Im allgemeinen kann man durch hohen Sauerstoffpartialdruck das vom Käufer gewünschte rote Aussehen erzielen, das durch Oxymyoglobin bedingt wird.

Um den Verhältnissen der Praxis nahezukommen, sind in weiteren Untersuchungen die Oberfläche von Fleischstücken, wie sie für die Hackfleischherstellung verwendet werden und insbesondere handelsübliches Hackfleisch untersucht worden. In beiden Fällen wurden anaerobe Keime festgestellt. Bei diesen Proben wäre die Vakuumverpackung theoretisch fragwürdig, weil der Sauerstoffentzug das Wachstum der anaerob wachsenden Keime begünstigt. Allerdings hat dieser Gesichtspunkt, sofern die Hackfleisch-VO respektiert wird, keine Bedeutung, da vakuumverpacktes Fleisch nicht über einen Tag hinaus und nur in Kühlvorrichtungen gelagert werden darf.

Nun wies zwar in den vorliegenden Untersuchungen vakuumverpacktes Hackfleisch bereits nach 24-stündiger Lagerung bei 4° C bzw. bei Zimmertemperatur stickigen Geruch auf und mußte als verdorben und genußuntauglich beurteilt werden. Andererseits konnte eine deutliche Vermehrung der anaeroben Keime mittels Keimzählverfahren nicht nachgewiesen werden. Lediglich nach Anreicherung in Traubenzuckerhochschicht und Leberbouillon konnten mittels Subkulturen auf Traubenzuckerblutplatten anaerobe Keime, darunter auch Cl. perfringens, isoliert werden. Diese Befunde lassen die Vakuumverpackung für Hackfleisch als bedenklich erscheinen. Nach anderen Autoren konnten sich jedoch pathogene Anaerobier in Vakuumpackungen nicht vermehren, was vermutlich auf das starke Wachstum von antagonistisch wirkenden Laktobazillen zurückzuführen ist (Terplan, persönliche Mitteilung).

Günstig für die Haltbarkeit wirkt sich die Salzung von Hackfleisch aus. Die halophoben Keime wurden durch das Salz in den bei Zimmertemperatur gelagerten Proben im Wachstum unterdrückt. Auch die Tatsache, daß nach einer 48-stündigen Lagerung der Proben bei 4° C der Gesamtkeimgehalt nicht wesentlich über dem Anfangskeimgehalt lag, läßt die Verwendung von Salz zweckmäßig erscheinen. Allerdings treten auch bei gesalzenem Hackfleisch nach 24 Stunden Farb- und Geruchsabweichungen auf.

Quantitative und qualitative bakteriologische Untersuchungen von Hackfleisch sind material- und zeitaufwendig. Da die Praxis, abgesehen vom Nachweis pathogener Keime, schnelle und einfache Methoden zur Beurteilung der hygienischen Beschaffenheit von Hackfleisch erfordert, wurde auch geprüft, inwieweit sich derartige Methoden, wie Reduktaseprobe, p_H -Messung sowie Ammo-

niachnachweis hinreichend genaue Aussagen über die hygienische Beschaffenheit einer Hackfleischprobe zulassen.

Die Methylenblau-Reduktaseprobe war lediglich dazu geeignet, schon relativ weit fortgeschrittene Verderbnis festzustellen. Geringgradige Verdorbenheit der Probe läßt sich mittels der Reduktaseprobe nicht erfassen. Eine Entfärbungszeit von 4 Stunden kann jedoch als Nachweis der Verdorbenheit angesehen werden. Im übrigen hat die Reduktaseprobe nur positiven Aussagewert.

Durch Untersuchung auf Ammoniakgehalt lassen sich nicht nur genauere, sondern auch kurzfristigere Ergebnisse ermitteln, die als zuverlässige Kriterien für die Beurteilung der hygienischen Beschaffenheit von Hackfleisch herangezogen werden können. Unter den Versuchsbedingungen sprach ein wenigstens mittelgradiger Ausfall der Reaktion auf NH_3 mit Neßler's Reagens für die Verdorbenheit der Probe. Dabei waren dann in fast allen Proben höhere p_H -Werte als 5,9 zu ermitteln. Bei sehr starker Ammoniakbildung war auch der p_H -Wert in der Regel > 7 . Die Ergebnisse der subjektiven grobsinnlichen Untersuchungen stimmten mit denen der objektiven Laboruntersuchungen nicht immer überein. Beginnende Verderbnis wird sich mittels der Ammoniakbildung oft schon früher ermitteln lassen als durch grobsinnliche Untersuchung.

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Die Vakuumverpackung von Hackfleisch entspricht der Hackfleisch-VO, sofern die Packungen in Kühlvorrichtungen aufbewahrt werden und sofern das Hackfleisch am Tag der Herstellung in den Verkehr gebracht wird.
2. Die Vakuumverpackung hemmt das Wachstum aerober Keime. Pathogene anaerobe Keime konnten aus vakuumverpacktem Hackfleisch isoliert werden; eine Vermehrung dieser Keime war jedoch nicht nachweisbar.
3. Vakuumverpacktes Hackfleisch weist ein wenig ansprechendes Aussehen auf (Braunfärbung, Fleischsaftaustritt).
4. Die Hackfleischherstellung unter Beachtung hygienischer Grundsätze ergibt erhebliche Unterschiede hinsichtlich Haltbarkeit und Keimgehalt gegenüber handelsüblichem Hackfleisch.
5. Der Zusatz von Speisesalz bewirkt bessere Haltbarkeit von Hackfleisch.
6. Die Methylenblaureduktaseprobe ermöglicht eine objektive Feststellung der Verdorbenheit, sofern die Entfärbung nach 4 Stunden oder schneller erfolgt.
7. Der Ammoniaknachweis mit Neßler's Reagens konnte als Hinweis auf Verderbnis gewertet werden, wenn die Reaktion deutlich war. Schwache Reaktionen traten auch bei genußtauglichem Hackfleisch auf.
8. Verdorbene Proben hatten meist höhere p_H -Werte als 5,9.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. Ball, C. O.: Factors affecting quality of prepackaged meat V.
Food Technol. 13 (1959), 193;
2. Ball, C. O.: Here are more factors involved in centralized packaging of fresh meat cuts. National Provisioner 144 (1961) Nr. 1;
ref. in Fleischwirtschaft 14 (1962), 127;
3. Ball, C. O.: Here are facts on color changes in packaging of fresh meat cuts. National Provisioner 143 (1960) Nr. 27, 10;
ref. in Fleischwirtschaft 14 (1962), 127;
4. Barthel und Orla-Jensen: ref. in Lerche-Hemmert-Halswick-Goerttler:
Lehrbuch der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung. 2. Auflage;
Verl. M. u. H. Schaper, Hannover 1942, S. 767;
5. Dean, R. W., und C. O. Ball: Pattern of redness loss and regeneration in prepackaged beef.
Food Technol. 14 (1960), 222;
6. Gehringer, K.: Tuberkelbakterien im Hackfleisch.
Diss. med. vet., Gießen 1956;
7. Gißke, W.: Vorverpacken von Lebensmitteln.
Fleischwirtschaft 12 (1960), 997;
8. George, P., und C. J. Stratmann: The oxydation of myoglobin to metmyoglobin by oxygen.
Biochem. J. 51 (1952), 418;
9. Großklaus, D.: Hygienische Maßnahmen bei der Verpackung von Fleischwaren.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 74 (1961), 175;
10. Gundelach: Hackfleischuntersuchungen und Hackfleischvergiftungen.
Zschr. Fleisch- und Milchhyg. 12 (1902), 343;
11. Hepp, L.: Gedanken zur Neuordnung der Hackfleischverordnung (HVO).
Arch. Lebensmittelhyg. 9 (1958), 14;

12. Hess, E., und A. Marthaler: Keimzählungen an abgepacktem Frischfleisch.
Fleischwirtschaft 14 (1962), 497;
13. Jacobsen, A.: Einige Untersuchungen über zubereitete Fleischwaren.
Diss. med. vet., Berlin 1922;
14. Kallert, E.: Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit von Hackfleisch aus Frisch- und Gefrierfleisch.
Berl. Tierärztl. Wschr. 44 (1928), 547;
15. Kelch, F.: Vergleichende Untersuchungen über die Haltbarkeit von Hackfleisch, Schabefleisch und Wurstbrät aus Gefrierfleisch.
Diss. med. vet., Berlin 1938;
16. Knorr, F.-L.: Über den Keimgehalt in Fleisch- und Wurstwaren.
Diss. med. vet., München 1953;
17. Kotter, L.: Diskussionsbeitrag bei einer Sitzung im Reg.-Präsidium Nordwürttemberg am 17.2.1959 in Stuttgart (unveröffentlicht);
18. Kraft, A. A., und J. C. Ayres: Post-mortem changes in stored meats.
Food Technol. 6 (1952), 8;
19. Labrie, A., und N. E. Gibbons: J. Biol. Bd., Canada, 3 (1937), 439;
ref. in L. B. Jensen: Microbiology of meats. 3. Auflage: The Garrard Press, Publishers, Champaign, Illinois, S. 18; 1953;
20. Leistner, L.: Die neuzeitliche Verpackung in der Fleischwirtschaft. 2. Mitteilung.
Die Vakuumverpackung für Fleischwaren, bakteriologisch betrachtet.
Fleischwirtschaft 9 (1957), 262;
21. Lienhop, E.: Verkauf von Hackfleisch unter Berücksichtigung moderner Herstellungs- und Verkaufsmöglichkeiten.
Arch. Lebensmittelhyg. 12 (1961), 146;
22. Mayer, E.: Über den Keimgehalt des käuflichen Hackfleisches und den Einfluß der gewöhnlichen Getränke auf den Genuß desselben.
Hyg. Rundschau 11 (1901), 877;

23. Meyer, R.: Zur Statistik der Fleischvergiftungen in den Jahren 1926 - 1928. Reichsgesundheitsblatt 4 (1929), 725;
24. Petterson, A.: Experimentelle Untersuchungen über das Conservieren von Fleisch und Fisch mit Salzen. Berlin. klin. Wschr. 42 (1899), 915; *ibid.*, Arch. f. Hyg. 37 (1900), 171. ref. in L. B. Jensen: Microbiology of meats. 3. Auflage; The Garrard Press, Publishers, Champaign, Illinois, S. 16; 1953;
25. Prändl, O.: Zur Vorverpackung von Hackfleisch. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 74 (1961), 195;
26. Prändl, O.: Zur Vorverpackung von Fleisch und Fleischwaren. Arch. Lebensmittelhyg. 13 (1962), 230;
27. Rogers, R. E., und C. S. McCleskey: Objective tests for quality of ground beef. Food Technol. 15 (1961), 210;
28. Schelhorn, M. v.: Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung von Kunststoffolien zur Verpackung verderblicher Fleischwaren. Fleischwirtschaft 8 (1956), 59;
29. Schelhorn, M. v.: Die Lebensmittelverpackung als Hilfsmittel der Hygiene. Verpackungsrdtschr. gelbe Beilage 7 (Dez. 1956);
30. Schönberg, F., und R. Könekamp: Zur Temperaturabhängigkeit der Proteolyse durch psychrotolerante Bakterien, insbesondere *Pseudomonas fluorescens liquefaciens*, gleichzeitig ein Beitrag zur Haltbarkeit von verpacktem und gekühltem Hackfleisch. Arch. Lebensmittelhyg. 13 (1962), 160;
31. Schönberg, F.: Einige Gedanken zur Hackfleischverordnung. Arch. Lebensmittelhyg. 12 (1961), 261;
32. Schönberg, F.: Zur Prüfung auf beginnende Fleischfäulnis unter besonderer Berücksichtigung des Ammoniaknachweises mit Neßler's Reagens. Arch. Lebensmittelhyg. 12 (1961), 92;

33. Sens, H.: Prüfung der Temperaturen im Verlauf der Hackfleischherstellung.
Arch. Lebensmittelhyg. 12 (1961), 23;
34. Stegen, H., und H. Müller: Die Eignung von Kunststoffpackungen für Fleischerzeugnisse.
Fleischwirtschaft 8 (1956), 249;
35. Sovadina, M.: Beitrag zur Bakteriologie des vorverpackten Frischfleisches.
ref. in Fleischwirtschaft 14 (1962), 310;
36. Stroscher, A.: Konservierung und Keimzahlen des Hackfleisches.
Arch. Hygiene 40 (1901), 291;
37. Tanner, F. W., und F. L. Evans: Effect of meat curing solutions on anaerobic bacteria.
Zbl. Bakt. Abt. II 88 (1933), 44;
38. Tanner, F. W., und F. L. Evans: Effect of sodium chloride in meat curing solutions on anaerobic bacteria.
Zbl. Bakt. Abt. II 91 (1934), 1;
39. Weichel: ref. in R. v. Ostertag: Lehrbuch der Schlachttier- und Fleischuntersuchung.
2. Auflage;
Verl. Ferdinand Enke, Stuttgart, 1955,
S. 734;
40. Wieser, F.: Haltbarkeitsuntersuchungen an vorverpacktem Frischfleisch und vorverpackter Brühwurst.
Diss. med. vet., München 1957;
41. Zeller, H., und K. Beller: Die Keimvermehrung in Fleisch und Hackfleisch unter verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen.
Zschr. Fleisch- und Milchhyg. 40 (1930), 245;
42. Zweifel, E.: Bakteriologische Untersuchungen von rohem Hackfleisch mit besonderer Berücksichtigung der Bazillen der Paratyphusgruppe.
Zbl. Bakt. Abt. I Orig. 58 (1911), 115;

Herrn Professor Dr. L. Kotter erlaube ich mir für die freundliche Überlassung des Themas ergebenst zu danken.

Besonderen Dank schulde ich auch Herrn Ob. Reg. Vet. Rat Dr. O. Scheu für die Überlassung des Arbeitsplatzes sowie Herrn Privatdozent Dr. G. Terplan für seinen guten Rat.

Lebenslauf

Am 6. April 1939 wurde ich als Sohn des Stadttierarztes Dr. Guido Stehle in Stuttgart geboren.

Von 1946 - 1949 besuchte ich die Grundschule, anschließend das Wagenburg-Gymnasium in Stuttgart, das ich im März 1958 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Im Sommersemester 1958 begann ich in München das Studium der Veterinärmedizin und legte dort im Februar 1960 die tierärztliche Vorprüfung ab. Dann studierte ich an den Tierärztlichen Hochschulen Wien und Hannover und bestand am 6.3.1963 die tierärztliche Prüfung an der Universität München.

1957-1958

In 1957-1958, the University of Wisconsin, Madison, was the first to establish a program in the field of the history of the United States. The program was established in 1957, and the first class of students was admitted in 1958. The program was established in the Department of History, and the first class of students was admitted in 1958. The program was established in the Department of History, and the first class of students was admitted in 1958.

1957-1958

Photodruck und Buchbinderarbeiten
PAUL JLLG Photo-Offsetdruck, Stuttgart-S, Olgastraße 66a